Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 1-16

Evaluation of The Effect of Adding *Oregano L.onites* and *Althaea offieinalis* Essential Oils into Milk on Growth and Metabolic Responses of Holstein Dairy Calves

Ehsan Ghaemi Rad[1], Alireza Vakili[2]*, Mohsen Danesh Mesgaran[2]

Received: 20-04-2021 Revised: 07-09-2021 Accepted: 08-11-2021 Available Online: 08-11-2021	**How to cite this article:** Ghaemi Rad, E., Vakili, A., & Danesh Mesgaran, M. (2023). Evaluation of the effect of adding *Oregano* and *Althaea offieinalis* essential oils into milk on growth and metabolic responses of Holstein dairy calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 1-16. DOI: 10.22067/ijasr.2022.73066.1045

Introduction: The present study was conducted to investigate the efficacy of adding *Oregano L.onites* and *Althaea offieinalis* essential oil into milk on performance, some blood parameters, skeletal growth, and metabolic responses of Holstein dairy calves. Higher milk consumption improves growth performance due to the increase in nutrients available to calves. In this experiment, it is assumed that high consumption of milk with better availability of nutrients and plant essential oils by eliminating pathogens and stabilizing the natural flora of the gastrointestinal tract improves calf function, reduces diarrhea and adequate growth during weaning.

Materials and Methods: A total of 60 Holstein dairy calves (30 females and 30 males; 7 days) with 42 ± 8 kg of average birth weight were used in a Factorial design (2 × 3) in which calves were randomly assigned to one of six different dietary treatments including 1) 6 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 2) 6 L/d milk with *Oregano L.onites* essential oil, 3) 6 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil, 4) 9 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 5) 9 L/d milk with *Oregano L.onites* essential oil and 6) 9 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil. Calves were individually housed and bedded with straw that was replaced every day. Feed and water were available ad libitum throughout the experiment. Calves were fed colostrum for 3 days and then fed high levels milk with 10% and 20% of their birth weight until 70 days of age. The rations were iso-energetic. Ruminal fluid samples were collected by esophagus tube after morning feeding at the end of study. Starter intake was recorded individually and daily. The amount of feed consumed daily was calculated throughout the experiment from the difference between the feed poured and the remaining feed. The experimental data were analyzed under the SAS 9.1 statistical program with general linear models (GLM). Comparisons of mean was done using Duncan test at a significance level of 5%.

Results and Discussion: In this study results showed that starter intake was affected by the experimental treatments ($p > 0.05$). Diet containing *Oregano L.onites* essential oil reduced feed intake in the period 56 to 70 and in the whole period with using 6 liters of milk ($p < 0.05$). Dry matter intake (feed dry matter with milk dry matter) in the period of 7 to 56, 56 to 70 days and in the whole period between the group receiving 6 liters and 9 liters of milk was not shown significant difference. Calves consuming 9 L/d milk in control group without inclusion of any essential oil supplementation had higher daily weight gain than other treatments ($p < 0.05$). The results indicated that calves fed milk without any additives had a higher feed efficiency ($p < 0.05$). Consuming 9 L/d milk in control group without inclusion of any essential oil supplementation had higher skeletal growth than other treatments ($p < 0.05$). Hip width, heart girth, body barrel and wither height were affected by the addition of essential oils supplementation ($p > 0.05$). Rumen parameters were not affected by essential oils ($p > 0.05$). Ruminal pH value was affected by the experimental treatments and in group of 6 L/d milk with *Oregano L.onites* essential oil had higher than other treatments ($p < 0.05$). Addition of *Oregano L.onites* essential oils to milk of Holstein

1- Ph.D. Candidate of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
*Corresponding Author's Email: savakili@um.ac.ir

calves had no detectable effect on the mean concentration of glucose, albumin, urea, aspartate-aminotransferase and alanine-aminotransferase ($p > 0.05$). The results showed that Feed behavior was affected by the experimental treatments ($p > 0.05$). Calves consuming *Oregano L.onites* essential oil supplementation had lowest ruminant and feed consume than other treatments ($p > 0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that the addition of plant essential oils, especially oregano essential oil in high amounts of milk of Holstein calves did not lead to increased feed intake, weight gain and increased skeletal growth compared to the control group. However, the effect of oregano essential oil on feed efficiency was significant. Therefore, increasing the quantitative and qualitative growth of calves per unit time and expressing their genetic predisposition by using plant essential oils as done in this study did not lead to better performance of Holstein calves. In contrast, increasing the amount of milk consumed in infant Holstein calves improved growth performance, although the feed efficiency of the 9-liter milk group was lower than the 6-liter milk group.

Keywords: Herbal essential oils, Initial diet, Rumen fermentation, Sucking calf

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی
جلد۱۵، شماره۱، بهار۱٤۰۲، ص ١٦-١

بررسی تأثیر استفاده از اسانس پونه کوهی (*Origanum L.onites*) و گل ختمی (*Althaea officinalis*) در شیر بر ویژگی‌های رشد و پاسخ‌های متابولیکی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

احسان قائمی راد[۱]، سید علیرضا وکیلی[۲*]، محسن دانش مسگران[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۰۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۲/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۰۳

چکیده

این مطالعه با هدف استفاده از اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی با غلظت g/kg As fed ۱ به شیر و بررسی تأثیر آن برعملکرد، ویژگی‌های رشد، وضعیت نمره مدفوع، تخمیر شکمبه و فراسنجه‌های خون گوساله‌های شیرخوار هلشتاین انجام شد. شش تیمار آزمایشی با دو سطح شیر خام مصرفی (شش لیتر و نه لیتر) و سه نوع اسانس (بدون اسانس، اسانس پونه کوهی و اسانس گل ختمی) در نظر گرفته شد. تعداد ۶۰ رأس گوساله نر و ماده هلشتاین (۳/۰±۴۰/۱ کیلوگرم) با استفاده از طرح فاکتوریل (۳×۲) در قالب طرح کاملاً تصادفی به شش گروه ۱۰ رأسی با جنسیت و میانگین وزن یکسان تقسیم شدند. گوساله‌ها به‌مدت سه روز در دو وعده آغوز دریافت کردند و سپس در سن هفت روزگی وارد آزمایش شدند. تیمارها شامل: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس ۲) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی مورد بررسی قرار گرفت. خوراک آغازین مصرفی به صورت روزانه تعیین گردید و وزن‌کشی گوساله‌ها در زمان ورود به آزمایش، ۵۶ روزگی و ۷۰ روزگی انجام شد. نتایج نشان داد که میانگین مصرف خوراک آغازین، مصرف ماده خشک، افزایش وزن و رشد اسکلتی گروه‌های دریافت‌کننده اسانس در مقایسه با گروه شاهد اثر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). بازده خوراک گروه مصرف‌کننده نه لیتر شیر بدون اسانس (شاهد) در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). استفاده از اسانس‌های گیاهی سبب تغییرات معنی‌داری در الگوی تخمیر میکروبی شکمبه و فراسنجه‌های سرم خون گوساله‌ها شد (P<۰/۰۵). گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی شیوع اسهال و میانگین تعداد روزهای ابتلا به اسهال را کاهش داد. گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی اثرات مطلوبی بر امتیاز مدفوع در مقایسه با گروه نه لیتر شیر بدون اسانس (شاهد) داشت (P<۰/۰۵). در تمامی دوره‌های اندازه‌گیری pH مایع شکمبه در گروه شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه بالاترین مقدار را نسبت به سایر گروه‌های دیگر داشت (P<۰/۰۵). به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از اسانس با غلظت g/kg As fed ۱ منتج به عملکرد بهتر رشد نخواهد شد، امّا بازده خوراک، تخمیر شکمبه و سلامت دستگاه گوارش ممکن است منجر به عملکرد بهتر گوساله‌های شیرخوار گردد. افزایش مقادیر شیر مصرفی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین باعث بهبود عملکرد رشد گردید، هر چند که بازده خوراک گروه نه لیتر شیر نسبت به شش لیتر شیر پایین‌تر بود.

واژه‌های کلیدی: اسانس گیاهی، تخمیر شکمبه‌ای، جیره آغازین، گوساله شیرخوار

مقدمه

موفقیت یک گاوداری تا حد زیادی به پرورش مناسب گوساله‌ها

۱- دانشجوی دکتری تغذیه دام دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.
۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.
(*- نویسنده مسئول (Email: savakili@um.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.2022.73066.1045

برای جایگزینی در گله وابسته است. برای داشتن گله شیری خوب باید گوساله‌های شیرخوار با استعداد ژنتیکی مطلوب را به‌روش مناسب تغذیه کرد (Abdel-Wareth *et al*., 2012). در دوره نوزادی ۶۰ درصد مرگ و میر گوساله‌ها ناشی از اسهال است. گوساله‌ها در اولین ماه پس از تولد بسیار حساس و آسیب‌پذیر هستند و با انواع بسیاری از باکتری‌های مضر روبرو می شوند. باکتری‌های بیماری‌زا مانند *اشرشیا کولی*، *سالمونلا* و *هلیکو باکتر* باعث اسهال در گوساله‌ها می‌شوند و در موارد شدید تر منجر به مرگ می‌گردند (Ammar *et al*., 2014). در سال‌های اخیر به‌دلیل استفاده‌ی گسترده از آنتی بیوتیک‌ها، مقاومت و جهش ژنتیکی عوامل بیماری‌زا در حیوانات و انسان‌ها افزایش یافته است. آنتی بیوتیک‌ها در سال ۱۹۸۶ در سوئد و سپس از سال ۲۰۰۵ در کشورهای اتحادیه اروپا به‌عنوان یک افزودنی خوراکی در تغذیه حیوانات ممنوع شد (Busquet *et al*., 2006). با توجه به اثرات ضدباکتری‌یایی و ضدقارچی، اسانس‌های گیاهی (کارواکرول و تیمول) اثرات کشندهای بر روی ریز جا نداران مضر مانند *Erwina amylovara*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Micrococcus luteuse*, *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus faecalis* دارند (De Oliveira *et al*., 2015). علاوه‌براین به‌دلیل تأثیر اسانس گیاهی بر میکروفلور روده، مطالعات زیادی وجود دارند. افزایش مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه بدن و جلوگیری از اسهال و برخی بیماری‌ها را هنگام مصرف اسانس‌های گیاهی گزارش کردند (Beharka *et al*., 1998; Castillo *et al*., 2012; Hernandez *et al*., 2004; Montoro *et al*., 2011). پونه کوهی از گیاهان خانواده نعنا (*Labiatae*) با نام علمی *Mentha pulegium* گیاهی چند ساله با ماده مؤثره منتول می‌باشد که باعث افزایش ترشح معده، ترغیب شروع مصرف خوراک و برای ناراحتی‌های گوارشی و اسهال به‌کار می‌رود (Castells *et al*., 2012). گل ختمی از گیاهان تیره پنیرکیان با نام علمی *Althaea officinalis* گیاهی چند ساله با ماده مؤثره موسیلاژ می‌باشد که باعث کاهش التهابات پوستی و تسکین ناراحتی‌های گوارشی می‌شود (Anderson *et al*., 1987). ترکیبات فعال اسانس‌های گیاهی به‌دلیل وجود گروه‌های هیدروکسیل در ساختار فنلی، فعالیت ضدمیکروبی مؤثری دارند. ترکیبات فعال اسانس‌های گیاهی ممکن است غشای سلولی باکتری را با مختل نمودن پروتون داخل سلولی و تغییر شیب‌های یونی (H^+) و (K^+) از بین ببرند و بر فرآیندهای ATP درون سلولی تأثیر بگذارند. لذا استفاده از اسانس‌های گیاهی با از بین بردن ریزجانداران مضر سبب بهبود عملکرد گوساله‌های شیرخوار شده‌اند (Beharka *et al*., 1998; Castillo *et al*., 2012; Hernandez *et al*., 2004).

از جنبه مصرف شیر، مطالعات نشان داده‌اند مصرف پایین مواد مغذی ممکن سبب افزایش مرگ و میر گوساله‌های شیرخوار و موجب مشکلات زیادی در صنعت دامپروری گردد (Santos *et al*., 2015). از مضرات تغذیه شیر با مقادیر محدود می‌توان به افزایش وزن و رشد اسکلتی پایین‌تر آن‌ها در مقایسه با گوساله‌های پرورش یافته با مقادیر بالای شیر اشاره کرد (De Oliveira *et al*., 2015). طی یک دهه گذشته چندین مطالعه اثرات افزایش عرضه شیر به گوساله‌های شیرخوار را بررسی کردند. این مطالعات افزایش وزن بالاتر، کاهش مرگ و میر و افزایش رفتار طبیعی را در گوساله هایی که با شیر بیشتری تغذیه شدند، گزارش کرده‌اند (Santos *et al*., 2015). امّا از مضرات افزایش عرضه شیر می‌توان به کاهش مصرف خوراک جامد در دوره شیر خوردن اشاره کرد. با این وجود، مصرف بالاتر شیر به‌دلیل افزایش مواد مغذی قابل دسترس برای گوساله، بهبود در عملکرد رشد ایجاد می‌کند. در این آزمایش، فرض می‌شود که مصرف بالای شیر با فراهمی بیشتر مواد مغذی و اسانس‌های گیاهی با از بین بردن عوامل بیماری‌زا و تثبیت فلور طبیعی دستگاه گوارش سبب بهبود عملکرد گوساله، کاهش اسهال و رشد کافی در زمان از شیرگیری می شود. به نظر می‌رسد تاکنون پژوهشی در زمینه افزودن اسانس‌های گیاهی به همراه مصرف مقادیر بالای شیر گوساله‌های شیرخوار انجام نشده است و با توجه به اینکه اوایل دوره رشد تأثیر گذار بر مراحل بعدی رشد است، این مطالعه در گوساله‌های شیرخوار انجام شد. بنابراین، تحقیق حاضر با هدف به‌کارگیری اسانس‌های گیاهی و مشخصاً اسانس های پونه کوهی (*Origanum L.onites*) و گل ختمی (*Althaea officinalis*) با غلظت 1 g/kg As fed در حضور سطوح مختلف مصرف شیر در دوره شیر خوارگی گوساله‌ها، و اثرات آن بر بهبود وضعیت سلامت، عملکرد رشد، تخمیر میکروبی و فراسنجه‌های خونی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در مزرعه تحقیقاتی گاو شیری دانشگاه فردوسی مشهد انجام گردید. در این تحقیق مجموعاً ۶۰ رأس گوساله هلشتاین به شش گروه تقسیم شدند. گوساله‌ها از روز هفتم وارد آزمایش شدند و در باکس‌های انفرادی نگهداری شدند. تیمارها شامل: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس ۲) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی مورد برر سی قرار گرفت. این آزمایش از تاریخ ۱۸ شهریور ۱۳۹۸ لغایت ۹ دی ماه ۱۳۹۸ در مزرعه تحقیقاتی گاو شیری دانشگاه فردوسی مشهد انجام گرفت.اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی با غلظت 1 g/kg As fed (هر گوساله روزانه مقدار یک سی‌سی اسانس در شش و نه لیتر شیر) با ترکیبات مؤثر (پونه کوهی با ۵۷/۵ درصد

تیمول و گل ختمی با ۴۸ در صد مو سیلاژ) از شرکت تجاری اکسیر سرخ خریداری شد. آب تمیز و تازه (دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۲۴ ساعت در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. مقدار شیر تا ۷۰ روزگی در تیمارهای با مصرف روزانه شش لیتر شیر و تیمارهای با مصرف روزانه نه لیتر شیر در سه وعده به گوساله‌ها خورانده شد (cc ۰/۳۳ اسانس برای هر وعده). مصرف خوراک به‌صورت هفتگی توسط سطل‌هایی که در جلوی جایگاه گوساله‌ها قرار گرفته بودند، اندازه‌گیری شده و هر روز خوراک تازه در اختیار گوساله‌ها قرار می‌گرفت، گوساله‌ها در هنگام ورود به طرح، وزن‌کشی شده و صفاتی مانند ارتفاع بدن (ارتفاع از جدوگاه)، ارتفاع هیپ، عرض هیپ (اندازه عرض استخوان لگن)، طول بدن (فاصله بین آخرین مهره گردن تا اولین مهره دمی)، دور سینه و عمق شکم در روزهای ورود به طرح، ۵۶ روزگی و خروج از طرح (۷۰ روزگی) اندازه‌گیری و یادداشت شد. نمره‌دهی مدفوع بر اساس روش پیشنهادی خان و همکاران (Khan *et al*., 2007) انجام گردید. نمره یک: مدفوع سفت (لوله‌ای)، نمره دو: مدفوع کمی شل (به صورت کپه‌ای)، نمره سه: مدفوع شل (جاری شده روی زمین) و نمره چهار: مدفوع خیلی شل (حالت آبکی در زمان خروج مدفوع) است. خون‌گیری در سه زمان ۷ ، ۳۵ و ۷۰ روزگی به‌صورت ناشتا از ورید وداج با استفاده از ونوجکت انجام شد. سرم خون جداسازی و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تعیین فراسنجه‌های خونی نگهداری شد. فراسنجه‌های خونی مورد ارزیابی شامل گلوکز، انسولین، آلبومین، نیتروژن اوره خون، آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز و آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز بود. در سن ۷۰ روزگی چهار ساعت بعد از تغذیه وعده صبحگاهی بوسیله دستگاه مکش و لوله مری، نمونه برداری از شیرابه شکمبه گوساله‌ها انجام شد. pH نمونه‌ها بلافاصله توسط pHمتر دیجیتال (مدل ۶۹۱، شرکت Metrohm) تعیین و ثبت گردید و سپس نمونه‌ها با استفاده از پارچه متقال در ظرفی تمیز، صاف گردید. از هر گوساله یک نمونه به حجم ۲۰ میلی‌لیتر جمع‌آوری شد. سپس به آن‌ها پنج میلی‌لیتر متافسفریک اسید جهت توقف تخمیر افزوده شد و به‌منظور اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی سریعاً نمونه‌ها به فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند. بررسی رفتار خوراک توسط روش ارائه شده کاستل و همکاران (Castells *et al*., 2012) با مشاهده چشمی به‌مدت چهار هفته (دو هفته قبل از ۵۶ روزگی و دو هفته پس از ۵۶ روزگی) روزانه برای تمامی گوساله‌ها به‌میزان یک ساعت قبل از مصرف شیر و یک ساعت پس از آن در هر تیمار صورت گرفت. بدین صورت که رفتار خوراک گوساله‌ها به‌مدت ۱۴ ساعت در هر هفته مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. بنابراین، کل زمان مشاهده شده برای هر گوساله ۵۶ ساعت در کل دوره می‌باشد. پارامترهایی چون زمان ایستادن، نشخوار کردن، خوابیدن و رفتارهای ضدتغذیه‌ای گوساله‌ها مورد ارزیابی قرار می‌گرفتند و مشاهدات ثبت گردید. خوراک آغازین بر اساس توصیه‌های جداول انجمن ملی تحقیقات (۲۰۰۱) برای گروه‌های مختلف آزمایشی طبق جدول ۱ تنظیم گردید.

تجزیه تحلیل داده‌ها

در ارتباط با مقادیر مربوط به متغیرهای اندازه‌گیری شده در طول دوره آزمایشی، از برنامه Excell برای مرتب کردن داده‌ها استفاده شد و سپس داده‌های آزمایش تحت برنامه آماری SAS 9.1 و مدل‌های خطی عمومی (GLM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد.

مدل آماری طرح مذکور به شرح زیر بود:

$Y_{ijk} = \mu + A_j + B_k + AB_{jk} + e_{ijk}$

که در آن، Yijk: مشاهده مربوط به گوساله iام در سطح jام فاکتور A و سطح kام فاکتور B، μ: میانگین کل، Aj: اثر شیر jام، B_k: اثر اسانس kام در تیمار jام، و eijk: خطای باقیمانده می‌باشد.

نتایج و بحث

مصرف خوراک، افزایش وزن و بازده خوراک

نتایج به‌دست آمده در مورد مصرف خوراک، ماده خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه و بازده خوراک در جدول ۲ نشان داده شده است. جیره حاوی اسانس گیاهی پونه کوهی سبب کاهش مصرف خوراک در بین گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر شد (P<۰/۰۵). کاهش مصرف خوراک در برخی تحقیقات به هنگام استفاده از اسانس‌های گیاهی ممکن است مربوط به مشکلات خوشخوراکی اسانس‌ها باشد (Benchaar *et al*., 2007). گروه‌های دریافت‌کننده بدون اسانس (شاهد) بیشترین افزایش ماده خشک مصرفی (ماده خشک خوراک به همراه ماده خشک شیر) در کل دوره را نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده اسانس‌های گیاهی داشتند (P<۰/۰۵). نتایج مطالعات حاضر، گزارشات کاردینالی و همکاران (Cardinali et al., 2015) در خصوص اثر اسانس پونه کوهی بر مصرف خوراک را تأیید می‌کند. گوساله‌های دریافت‌کننده نه لیتر شیر دارای افزایش وزن بالاتری نسبت به گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر بودند و کمترین میزان افزایش وزن روزانه مربوط به گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی بود (P<۰/۰۵). افزایش وزن روزانه در تمامی دوره‌ها در گروه دریافت‌کننده اسانس گل ختمی بیشتر از گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی بود (P<۰/۰۵). نتایج مربوط به اثر افزایش مقدار شیر بر افزایش وزن روزانه مشابه با نتایج دنیس و همکاران (Dennis *et al*., 2018) بود که در آزمایشات این محقق افزایش مقدار شیر به گوساله ها منجر به افزایش وزن و به دنبال آن افزایش عملکرد گوساله‌های شیرخوار شده بود. به‌طور کلی، گوساله‌های دریافت‌کننده

نه لیتر شیر دارای بازده خوراک بالاتری نسبت به گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر بودند (P<۰/۰۵). بهبود بازده خوراک در تیمارهای حاوی اسانس پونه کوهی و گل ختمی می‌تواند بدلیل تغییر در فلور میکروبی شکمبه در حضور اسانس‌ها باشد، به‌طوری‌که کاهش باکتری‌های تولیدکننده گاز متان باعث کاهش متان شده و بهبود بازدهی خوراک را در پی دارد. مشاهدات مطالعات حاضر، نتایج مطالعات وفا و همکاران (Wafa et al., 2021) که اشاره به تأثیر اسانس‌ها بر بهبود بازده خوراک گوساله‌های شیرخوار هلشتاین داشت را تأیید می‌کند.

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب مواد مغذی جیره آغازین گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 1- Ingredients and chemical composition of basal diet for Holstein dairy calves

ترکیب جیره Diet composition	مقدار (درصد از ماده خشک) Value (%DM)
جو Barley grain	30
ذرت Corn grain	20
سبوس گندم Wheat bran	18
کنجاله سویا Soybean meal	25
کنجاله تخم پنبه Cotton seed meal	5
کربنات کلسیم Calcium carbonate	0.5
مکمل ویتامینی و مواد معدنی[۱] Mineral-vitamin supplement[1]	1.5
ترکیب مواد مغذی Chemical composition (٪)	
ماده خشک DM, % as fed	91
پروتئین خام Crude protein	21
چربی خام Fat	4.5
فیبر نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	21
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری بر کیلوگرم) Metabolizable energy (Mcal/kg)[2]	2.91
انرژی خالص افزایش وزن (مگاکالری بر کیلوگرم) Net gain energy (Mcal/kg)[3]	1.27

[۱] هر کیلوگرم مکمل معدنی و ویتامینی حاوی: ۲۵۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۵۰۰۰۰ واحد ویتامین D، ۱۵۰۰واحد ویتامین E، ۲۵/۲ گرم منگنز، ۱۲۰گرم کلسیم، ۷/۷ گرم روی، ۲۰ گرم فسفر، ۵/۲۰ گرم منیزیم، ۱۸۶ گرم سدیم، ۲۵/۱ گرم آهن، ۳ گرم گوگرد، ۱۴ میلی‌گرم کبالت، ۲۵/۱ گرم مس، ۵۶ میلی‌گرم ید

[1] Every kilogram of minaral and vitamin supplement containing: 250,000 IU vitamin A, 50,000 IU vitamin D, 1,500 IU vitamin E, 2.25 g Mn, 120 g Ca, 7.7 g Zn, 20 g P, 20.5 g Mg, 186 g Na, 1.25 g Fe, 3 g S, 14 mg Co, 1.25 g Cu, 56 mg I.

[2] ME = 1.1 × Digestible energy (Mcal/kg) – 0.45

[3] NEg = -0.003340 + 0.4979 BW/bw0.75

جدول ۲- میزان مصرف خوراک (گرم در روز)، مصرف ماده خشک (گرم در روز)، افزایش وزن روزانه (کیلوگرم در روز) و بازده خوراک (گرم در روز)گوساله‌های هلشتاین تغذیه شده با مقادیر بالای شیر با یا بدون اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی

Table 2- Feed intake, dry matter intake, average daily gain and feed efficiency of Holstein dairy calves fed high levels milk with or without essential oils

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی[۱] Experimental diets[1]						SEM[2]	P-value[3]		
	شش لیتر شیر 6 liter milk			نه لیتر شیر 9 liter milk						
	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی *Origanum L.onites*	گل ختمی *Althaea officinalis*	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی *Origanum L.onites*	گل ختمی *Althaea officinalis*		شش در مقابل نه 6 liter milk VS 9 liter milk	اسانس Essential oil	شیر در مقابل اسانس Milk VS Essential oil
مصرف خوراک (گرم در روز) Feed intake (g/d)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	866.48^{a}	772.42^{ab}	756.35^{b}	768.64^{ab}	738.63^{b}	734.88^{b}	13.27	0.0659	0.0750	0.4624
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	939.19^{a}	813.40^{b}	842.52^{b}	898.88^{ab}	829.61^{b}	845.73^{b}	11.89	0.7722	0.0068	0.6030
کل دوره Total period	635.31^{a}	447.06^{b}	491.61^{ab}	492.72^{ab}	461.22^{b}	472.81^{b}	7.10	0.2783	0.0078	0.2795
مصرف ماده خشک (گرم در روز) dry matter intake (g/d)										
روز ۵۶– ۷ 7 - 56 d	863.80^{a}	777.89^{ab}	763.28^{b}	811.96^{ab}	784.64^{ab}	781.23^{ab}	12.07	0.7112	0.0749	0.4595
روز ۷۰– ۵۶ 56 - 70 d	929.66^{a}	815.19^{b}	841.69^{b}	930.47^{a}	867.44^{ab}	883.48^{ab}	10.88	0.1589	0.0072	0.6011
کل دوره Total period	562.12^{a}	481.82^{b}	522.26^{ab}	560.87^{a}	532.20^{a}	542.75^{a}	6.46	0.0850	0.0078	0.2796
افزایش وزن روزانه (کیلوگرم) Daily weight gain (kg)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	0.835^{bc}	0.660^{d}	0.820^{c}	0.990^{a}	0.886^{bc}	0.901^{b}	0.0096	<0001	<0001	0.0178
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	0.684^{a}	0.665^{a}	0.704^{a}	0.683^{a}	0.740^{a}	0.741^{a}	0.0119	0.0030	0.0006	0.0263
کل دوره Total period	0.797^{cb}	0.771^{c}	0.811^{cab}	0.817^{cab}	0.870^{a}	0.851^{ab}	0.0087	<0001	0.0001	0.0382
بازده خوراک (گرم در روز) Feed efficiency (g/d)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	0.981^{c}	0.858^{d}	1.07^{cb}	1.22^{a}	1.12^{ab}	1.14^{ab}	0.0166	<0001	0.0118	0.0465
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	0.761^{ab}	0.696^{b}	0.878^{a}	0.868^{a}	0.810^{ab}	0.820^{ab}	0.0185	0.1599	0.1233	0.1229
کل دوره Total period	1.45^{b}	1.40^{b}	1.52^{ab}	1.66^{a}	1.59^{ab}	1.57^{ab}	0.0248	0.0043	0.5846	0.3737

[۱] تیمارها: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس، ۲) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی، ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی، ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس، ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی

[۲] میانگین خطای استاندارد

[۳] سطح احتمال معنی‌دار شدن: P= ۰/۰۵

[1] Treatment consisted 1) 6 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 2) 6 L/d milk with *Oregano* essential oil, 3) 6 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil, 4) 9 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 5) 9 L/d milk with *Oregano* essential oil and 6) 9 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil.

[2] Standard error of mean

[3] Probability value p= 0.05

فراسنجه‌های رشد اسکلتی

اندازه‌گیری فراسنجه‌های رشد اسکلتی در زمان‌های ۷ تا ۵۶ روزگی و ۵۶ تا ۷۰ روزگی صورت گرفت. این پارامترها شامل: طول بدن، ارتفاع هیپ، عرض هیپ، دور سینه، عمق شکم و ارتفاع بدن (قد) بودند. با توجه به جدول ۳ در پایان دوره فرا سنجه‌های ر شدی و اسکلتی گوساله‌ها در گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی نسبت به دیگر گروه‌ها کمتر بود (P<۰/۰۵). عرض هیپ، ارتفاع هیپ و عمق شکم در هر دو دوره ۷-۵۶ و ۵۶-۷۰ روزگی در گوساله های دریافت‌کننده اسانس گل ختمی نسبت به گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی بالاتر بود (P<۰/۰۵). گروه دریافت‌کننده روزانه نه لیتر شیر نسبت به گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر عملکرد بالاتر و بیشتری نشان دادند (P<۰/۰۵). عمق شکم، عرض هیپ، ارتفاع هیپ و طول بدن در گروه دریافت‌کننده نه لیتر شیر بیشتر بود که می‌توان درباره عمق شکم چنین نتیجه گرفت که به‌دلیل افزایش حجم شیر در گوساله‌های دریافت‌کننده روزانه نه لیتر شیر حجم شکمبه بالاتری داشتند و این سبب افزایش عمق شکم شده است. اطلاعات زیادی درباره اثر اسانس‌های گیاهی پونه کوهی و گل ختمی بر فراسنجه‌های رشد گوساله‌های شیرخوار وجود ندارد، امّا ترکیبات فعال آن‌ها در تحقیقات مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌اند که نتایج متفاوت به‌دست آمده است. معنی‌دار شدن اثر اسانس‌ها بر رشد اسکلتی به‌نظر می‌رسد احتمالا به‌علت تحت تأثیر قرار گرفتن مقدار غلظت اسانس بر عملکرد گوساله‌ها و عدم تامین مواد معدنی و ویتامینه مورد نیاز اسکلت در گروه‌های آزمایشی حاوی اسانس پونه کوهی بوده است. با این حال بررسی‌های بیشتر روی دیگر متابولیت‌های خونی مانند کلسیم و فسفر برای اظهار نظر دقیق تر در این زمینه می‌تواند راهگشای دقیق‌تر در زمینه تأثیر اسانس‌های گیاهی بر رشد اسکلتی باشد. در مطالعات بیرانوند و همکاران (Beiranvand et al., 2014) و گزار شات دنیس و همکاران (Dennis et al., 2018) اشاره شده است که جذب بالایی از کلسیم ممکن است در شکمبه رخ دهد و میزان جذب تا ۵۰ در صد اشاره شده است و به‌علت غنی بودن شیر از کلسیم سبب شده که گوساله‌های تحت اثر گروه دریافت‌کننده نه لیتر شیر شرایط بهتر جذب کلسیم در شکمبه و رشد اسکلتی داشته باشند. نتایج مطالعه حاضر با مطالعات انجام شده دنیس و همکاران (Dennis et al., 2018) منطبق می‌باشد.

pH، اسیدهای چرب مایع شکمبه، نمره مدفوع و روزهای ابتلا به اسهال

میانگین pH مایع شکمبه برای تیمارهای آزمایشی در دوره‌های ۳۵، ۵۶ و ۷۰ روزگی در جدول ۴ آورده شده است. نتایج نشان داد گروه‌های دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی دارای pH مایع شکمبه‌ای بالاتری نسبت به دیگر گروه‌ها بود که این ممکن است ناشی از اثر اسانس پونه کوهی بر فرایند تخمیر شکمبه باشد. همچنین طبق نظریه جاک و همکاران (Joch *et al.*, 2016) به‌دلیل پایین‌تر بودن مصرف خوراک در گروه‌های دریافت‌کننده اسانس نسبت به گروه شاهد، باعث جذب بیشتر اسیدهای چرب فرار شده است و یا ممکن است خاصیت ضدمیکروبی اسانس‌ها منجر به بالا رفتن pH مایع شکمبه شده باشد. نتایج مطالعه حاضر با گزارشات جاک و همکاران (Joch *et al.*, 2016) در ارتباط با افزایش مصرف خوراک و عملکرد آن بر تخمیر میکروبی شکمبه تا حدودی موافق بود. همچنین طبق نظریه بهارکا و همکاران (Beharka *et al.*, 1998) به‌دلیل بالاتر بودن مصرف خوراک در گروه‌های حاوی شش لیتر نسبت به گروه نه لیتر باعث توسعه بهتر شکمبه شده است و در نتیجه، جذب بیشتر اسیدهای چرب رخ داده است. گوساله‌ها در چهار هفته اول زندگی خود از نظر ابتلا به اسهال آسیب‌پذیر هستند. این مسئله به‌دلیل توسعه نیافته بودن شکمبه و متعاقب آن گوارش ناقص خوراک خورده شده بروز می‌کند. امتیاز مدفوع کل دوره درگروه دریافت‌کننده روزانه شش لیتر شیر در مقایسه با گروه دریافت‌کننده روزانه نه لیتر شیر پایین‌تر بود (P< ۰/۰۵). با توجه به نتایج مشخص است که امتیاز مدفوع تحت تأثیر دریافت اسانس پونه کوهی قرار گرفت (P< ۰/۰۵). اطلاعات زیادی درباره اثر اسانس‌های گیاهی پونه کوهی و گل ختمی بر امتیاز مدفوع گوساله‌های شیرخوار وجود ندارد، امّا وجود ترکیبات فعال ثانویه در تحقیقات مختلف مورد بررسی قرار گرفته اند که نتایج متفاوت به‌دست آمده است. معنی‌دار شدن اثر اسانس‌ها بر امتیاز مدفوع به نظر می‌رسد احتمالاً به‌علت تحت تأثیر قرار گرفتن مقدار غلظت اسانس بر کاهش مصرف خوراک و متعاقب آن کاهش عملکرد گوساله‌های گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی و یا به‌دلیل اثر اسانس پونه کوهی بر عملکرد تخمیر میکروبی شکمبه و کاهش جمعیت میکروبی بیماری‌زا در شکمبه می‌باشد. گروه دریافت‌کننده روزانه شش لیتر شیر در مقایسه با گروه دریافت‌کننده روزانه نه لیتر شیر دارای روزهای ابتلا به اسهال کمتری بودند (P< ۰/۰۵). نتایج مطالعه حاضر هم راستا با مطالعه روزنبرگر و همکاران (Rosenberger et al., 2017) می‌باشد که اشاره به این دارد که افزایش سطح عرضه شیر به گوساله به‌دلیل دارا بودن مقادیر یون کلسیم و پتاسیم در شیر باعث خاصیت ملینی و افزایش روزهای مبتلا به اسهال می‌شوند، با این حال با مدیریت شرایط بهداشتی محیط می‌توان میزان اسهال را کاهش داد. با توجه به نتایج مشخص است که روزهای ابتلا به اسهال تحت تأثیر دریافت اسانس پونه کوهی قرار گرفت (P< ۰/۰۵).

جدول ۳- فراسنجه‌های رشد اسکلتی (سانتی‌متر) گوساله‌های شیری هلشتاین تغذیه شده با مقادیر بالای شیر با یا بدون اسانس گیاهی پونه کوهی و گل ختمی

Table 3- Body measurements of Holstein dairy calves fed with the experimental diets high levels milk with or without essential oils

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی[1] Experimental diets[1]						SEM[2]	P-value[3]		
	شش لیتر شیر 6 liter milk			نه لیتر شیر 9 liter milk						
	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis		شش در مقابل نه 6 liter milk VS 9 liter milk	اسانس Essential oil	شیر در مقابل اسانس Milk VS Essential oil
طول بدن (سانتی‌متر) Body length (cm)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	73^{b}	70^{c}	72.25^{cb}	77.66^{a}	74.83^{ab}	74.91^{ab}	0.3791	<0001	0.0149	0.4424
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	80.08^{b}	79.08^{b}	79.16^{b}	83.41^{a}	81.08^{ab}	81.16^{ab}	0.3327	0.0011	0.0901	0.6452
ارتفاع هیپ (سانتی‌متر) Hip height (cm)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	90.66^{dc}	86.75^{e}	89.91^{d}	94.16^{a}	91.5^{cb}	91.91^{b}	0.1258	<0001	<0001	0.0007
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	95.33^{dc}	93.16^{e}	94.25^{de}	99.16^{a}	96.41^{bc}	96.58^{b}	0.1527	<0001	<0001	0.1509
عرض هیپ (سانتی‌متر) Hip width (cm)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	22.16^{b}	20.75^{c}	22.08^{b}	24.08^{a}	22.33^{b}	22.5^{b}	0.1737	0.0009	0.0040	0.2010
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	23.83^{bc}	21.58^{d}	23.5^{c}	26.15^{a}	24^{bc}	24.5^{b}	0.1225	<0001	<0001	0.0454
دور سینه (سانتی‌متر) Heart girth (cm)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	93.66^{ab}	91.25^{b}	93.58^{ab}	96.33^{a}	94^{ab}	94.41^{a}	0.4010	0.0155	0.0709	0.5522
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	96.83^{a}	92.91^{b}	96.66^{a}	100.08^{a}	97.08^{a}	97.66^{a}	0.4625	0.0056	0.0177	0.3703
عمق شکم (سانتی‌متر) Body barrel (cm)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	94.83^{ab}	91.58^{d}	94.08^{cb}	96.08^{a}	93^{cb}	94^{cb}	0.2011	0.0423	<0001	0.2672
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	97.5^{bc}	94.33^{d}	96.5^{c}	100.33^{a}	97.5^{bc}	98.66^{b}	0.1856	<0001	<0001	0.5425
ارتفاع بدن (سانتی‌متر) Withers height (cm)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	86^{b}	83.5^{b}	85.41^{b}	90.25^{a}	86.25^{b}	87.41^{ab}	0.4990	0.0060	0.0444	0.6494
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	88.41^{ab}	85.33^{b}	88.25^{ab}	92.25^{a}	89.08^{ab}	89.41^{ab}	0.5459	0.0131	0.0845	0.5343

[1] تیمارها: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس، ۲) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی، ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی، ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس، ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی

[2] میانگین خطای استاندارد

[3] سطح احتمال معنی‌دار شدن: P= ۰/۰۵

[1] Treatment consisted 1) 6 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 2) 6 L/d milk with *Oregano* essential oil, 3) 6 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil, 4) 9 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 5) 9 L/d milk with *Oregano* essential oil and 6) 9 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil.

[2] Standard error of mean

[3] Probability value p= 0.05

گروههایی که دریافت‌کننده اســانس‌های پونه کوهی و گل ختمی بودند، میزان روزهای ابتلا به اسهال پایین‌تری نسبت به گوساله‌هایی که اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی دریافت نکرده بودند، داشتند (P<۰/۰۵). این اتفاق به دو دلیل می‌تواند رخ داده باشــد، اول اینکه به‌دلیل کاهش مصــرف خوراک در گوســاله‌های گروه دریافت‌کننده اســانس‌های گیاهی مقدار روزهای ابتلا به اســهال و اســکور مدفوع پایین‌تری داشــتند، بنابراین قدرت جذب اســیدچرب فرار و تخمیر شکمبه در مقایسه با گروه دریافت‌کننده بدون اسانس افزایش یافته و بنابراین، محققان روزهای ابتلا به اســهال و اســکور مدفوع کمتر در گروه دریافت‌کننده اســانس‌های گیاهی را به‌دلیل جذب بیشــتر اســید چرب فرار در شکمبه بیان کردند. دلیل دوم احتمالاً کاهش باکتری‌های بیماری‌زا در دســتگاه گوارش به‌علت خاصــیت اثر ضــد میکروبی اســانس‌های گیاهی به‌ویژه اســانس پونه کوهی و در نتیجه، افزایش سلامت دستگاه گوارش می‌باشد. فراسنجه‌های تخمیر شکمبه تحت تأثیر مصــرف مقادیر بالای شــیر قرار گرفت و فراســنجه‌های تخمیر شکمبه گروه دریافت‌کننده نه لیتر شیر نسبت به گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر بالاترین مقدار را داشت (P<۰/۰۵)، با این حال الگوی تخمیر میکروبی تحت تأثیر افزودن اســانس‌های پونه کوهی و گل ختمی قرار نگرفت. نتایج مطالعه حاضــر با مطالعات ژو و همکاران (Zhou *et al*., 2020) در ارتباط با اثر غلظت‌های مختلف اســانس پونه کوهی (۱۳، ۵۲، ۹۱، ۱۳۰، ۱۵۰ و ۱۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) و عملکرد آن بر مقدار اســیدهای چرب فرار مورد بررســی قرار گرفت و مشــاهده گردید، غلظت کل اســیدهای چرب فرار، اســتات، پروپیونات، بوتیرات، والرات و ایزو والرات با افزایش غلظت اســانس پونه کوهی کاهش یافت، هم راستا است.

فراسنجه‌های خونی

نتایج مربوط به فراســنجه‌های خونی نشــان داد، اثر اســانس‌های پونه کوهی و گل ختمی بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌ها معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). اطلاعات بسیار کمی در رابطه با تأثیر اسانس‌های گیاهی بر فراســنجه‌های خونی گوســاله‌های شــیرخوار در دســترس اســت. مطالعات یانگ و همکاران (Yang *et al*., 2016) نشان داد که غلظت برخی از فراسنجه‌های خون مانند گلوکز و انسولین می‌تواند به‌وسیله اســتفاده از اســانس‌های گیاهی از طریق مقدار مصــرف خوراک تحت تأثیر قرار گیرد. با توجه به نتایج جدول ۵، غلظت انسولین و گلوکز در سن ۷۰ روزگی، آلانین آمینو ترانسفراز در سن ۷، ۳۵ و ۷۰ روزگی و آلبومین در سن ۷ و ۳۵ روزگی، گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی غلظت کمتری نسبت به اسانس گل ختمی داشت (p<۰/۰۵). نتایج مربوط به فراسنجه‌های خونی نشان داد که دریافت مقادیر نه لیتر شیر نسبت به دریافت مقادیر شش لیتر شیر بالاتر بود (p<۰/۰۵). با توجه به اینکه منبع انرژی گوساله‌های شیرخوار گلوکز می‌باشد و از آن‌جایی که گروه‌های آزمایشــی تحت تأثیر مقادیر بالای دریافت شــیر قرار گرفتند، تغییر غلظت گلوکز و انســولین قابل انتظار بود. همان‌گونه که در جدول ۵ نشــان داده شــده اســت. مقدار نیتروژن اوره خون در این پژوهش تحت تأثیر اســانس پونه کوهی قرار گرفت و معنی‌دار شــد (P<۰/۰۵). سنتز اوره در کبد از آمونیاک جذب شده از جدار شکمبه صورت می‌گیرد، بنابراین غلظت نیتروژن اوره خون رابطه مستقیمی با غلظت آمونیاک شــکمبه دارد (Souza *et al*., 2007). نتایج مطالعه حاضر با مطالعات سایر محققان همراستا می‌باشد (Grigore *et al*., 2010; Rusenova and Parvanov 2009; Zhou et al., 2020). همان‌گونه که در جدول ۵ نشان داده شده است. آلبومین خون گروه دریافت‌کننده نه لیتر نســبت به گروه دریافت‌کننده شــش لیتر شــیر غلظت بیشتری داشت (p<۰/۰۵). استفاده از اسانس‌های گیاهی باعث تغییر غلظت در آنزیم کبدی آلانین آمینو ترانسفراز شد (p<۰/۰۵). با این وجود، آنزیم کبدی آســپارتات آمینو ترانســفراز تحت تأثیر اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی قرار نگرفت. نتایج مطالعه حاضر با مطالعات گریگور و همکاران (Grigore *et al*., 2010) و جاخیا و همکاران (Jakhetia *et al*., 2010) که نشــان دادند فعالیت فارکولوژیکی ترکیب فعال تیمول و کارواکرول باعث کاهش غلظت آنزیم‌های کبدی می‌شود همراستا می‌باشد. مطالعه حاضر با نتایج چاوز و همکاران (Chaves *et al*., 2008) که با مکمل کردن اسانس‌های گیاهی در جیره اثری بر فراسنجه‌های خونی مشاهده نکردند، همراستا نبود. همچنین مطالعه وکیلی و همکاران (Vakili *et al*., 2013) نشــان دادند که افزودن اســانس‌های آویشــن و دارچین به جیره گوساله‌های پرواری بر فراسنجه‌های خونی اثر نداشت. آنلو و همکاران (Ünlü and Rekik, 2013) اشاره داشتند، اسانس‌ها سبب افزایش هشــت برابری آلانین آمینو ترانســفراز می‌شــود. با این وجود، سیمیتز و همکاران (Simitis *et al*., 2008) اشاره به کاهش غلظت آلانین آمینو ترانسفراز در حضور اسانس گیاهی داشتند.

جدول ٤– pH و اسیدهای چرب مایع شکمبه گوساله‌های شیری هلشتاین تغذیه شده با مقادیر بالای شیر با یا بدون اسانس گیاهی پونه کوهی و گل ختمی

Table 4- pH and ruminal fluid fatty acid of Holstein dairy calves fed with the experimental diets high levels milk with or without essential oils

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی[۱] Experimental diets[1]						SEM[2]	P-value[3]		
	شش لیتر شیر 6 liter milk			نه لیترشیر 9 liter milk						
	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis		شش در مقابل نه 6 liter milk VS 9 liter milk	اسانس Essential oil	شیر در مقابل اسانس Milk VS Essential oil
pH مایع شکمبه (میلی‌مول در لیتر) Ruminal pH fluid (mmol/l)										
روز ۳۵ 35 d	5.17^{ab}	5.24^{a}	5.21^{a}	5.01^{d}	5.12^{cb}	5.06^{cd}	0.0149	<0001	0.0209	0.7118
روز ۵۶ 56 d	5.36^{ab}	5.41^{a}	5.33^{b}	5.12^{c}	5.16^{c}	5.13^{c}	0.0110	<0001	0.0277	0.4289
روز ۷۰ 70 d	5.95^{a}	6.08^{a}	5.92^{a}	5.35^{b}	5.54^{b}	5.31^{b}	0.0552	<0001	0.1506	0.9335
اسیدچرب مایع شکمبه (میلی‌مول در لیتر) Ruminal fluid fatty acid (mmol/l)										
استات Acetate	26.62^{cb}	25.99^{c}	25.78^{c}	28.53^{a}	27.25^{cab}	27.94^{ab}	0.2722	0.0010	0.1580	0.6408
پروپیونات Propionate	28.14^{cb}	27.20^{c}	27.07^{c}	30.05^{a}	28.96^{ab}	29.33^{ab}	0.3017	0.0009	0.1541	0.8907
ایزوبوتیرات Isobutyrate	0.740^{b}	0.746^{ab}	0.746^{ab}	0.760^{a}	0.760^{a}	0.760^{a}	0.0026	0.0019	0.7082	0.7082
بوتیرات Butyrate	3.08^{cb}	2.99^{c}	3.02^{c}	3.23^{a}	3.15^{ab}	3.16^{ab}	0.0217	0.0006	0.1275	0.9756
ایزووالرات Isovalerate	0.726^{cab}	0.713^{cb}	0.710^{c}	0.743^{a}	0.733^{ab}	0.740^{a}	0.0038	0.0021	0.2139	0.5955
والرات Valerate	1.26^{ab}	1.22^{b}	1.23^{b}	1.32^{a}	1.3^{a}	1.29^{a}	0.0107	0.0012	0.1932	0.7629
کل اسید چرب Total fatty acid	60.61^{cdb}	58.89^{cd}	58.59^{d}	64.67^{a}	62.19^{cab}	63.23^{ab}	0.6067	0.0009	0.1529	0.8185
اسکور مدفوع Facal score	2.56^{c}	2.13^{d}	2.67^{c}	3.56^{a}	3.29^{b}	3.3^{b}	0.0336	<0001	0.0007	0.0112
روزهای ابتلا به اسهال Days of diarrhea	2.66^{cd}	1.87^{d}	2.83^{cb}	4.16^{a}	3.66^{ab}	4.5^{a}	0.1281	<0001	0.0205	0.8692

[۱] تیمارها: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس، ۲) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی، ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی، ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس، ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی

[۲] میانگین خطای استاندارد

[۳] سطح احتمال معنی‌دار شدن: P= ۰/۰۵

[1] Treatment consisted 1) 6 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 2) 6 L/d milk with Oregano essential oil, 3) 6 L/d milk with Althaea offieinalis essential oil, 4) 9 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 5) 9 L/d milk with Oregano essential oil and 6) 9 L/d milk with Althaea offieinalis essential oil.

[2] Standard error of mean

[3] Probability value p= 0.05

جدول ۵- فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تغذیه شده با مقادیر بالای شیر با یا بدون اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی

Table 5- Blood metabolites of Holstein dairy calves fed with the experimental diets high levels milk with or without essential oils

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی[۱] Experimental diets[1]						SEM[2]	P-value[3]		
	شش لیتر شیر 6 liter milk			نه لیتر شیر 9 liter milk						
	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis		شش در مقابل نه 6 liter milk VS 9 liter milk	اسانس Essential oil	شیر در مقابل اسانس Milk VS essential oil
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی لیتر) Glucose (mg/dl)										
روز ۷ 7 d	69.66^{a}	68.00^{b}	69.00^{ab}	69.00^{ab}	70.00^{a}	69.33^{a}	0.1825	0.0569	0.5905	0.0057
روز ۳۵ 35 d	83.00^{b}	82.00^{b}	82.66^{b}	90.66^{a}	88.00^{a}	90.00^{a}	0.5431	<0001	0.1821	0.6563
روز ۷۰ 70 d	86.00^{c}	84.00^{d}	85.66^{cd}	96.00^{a}	94.00^{b}	95.33^{ab}	0.3162	<0001	0.0115	0.9408
آلبومین (گرم بر دسی لیتر) Albumin (g/dl)										
روز ۷ 7 d	3.17^{b}	2.78^{c}	3.15^{b}	3.37^{a}	3.28^{ab}	3.34^{a}	0.0286	<0001	0.0013	0.0154
روز ۳۵ 35 d	3.43^{b}	3.13^{d}	3.35^{c}	3.58^{a}	3.46^{b}	3.54^{a}	0.0133	<0001	<0001	0.0077
روز ۷۰ 70 d	3.54^{b}	3.36^{c}	3.50^{bc}	3.93^{a}	3.84^{a}	3.85^{a}	0.0264	<0001	0.0433	0.3735
نیتروژن اوره خون (میلی‌گرم در دسی لیتر) Blood urea nitrogen (mg/dl)										
روز ۷ 7 d	15.30^{a}	15.33^{a}	15.22^{a}	15.56^{a}	15.50^{a}	15.59^{a}	0.0739	0.0289	0.9826	0.7439
روز ۳۵ 35 d	19.50^{b}	17.53^{c}	19.10^{b}	22.03^{a}	20.96^{a}	21.66^{a}	0.1925	<0001	0.0028	0.3493
روز ۷۰ 70 d	17.76^{b}	15.93^{c}	17.48^{b}	19.13^{a}	18.86^{a}	18.96^{a}	0.1227	<0001	0.0014	0.0071
آسپارتات آمینو ترانسفراز (واحد درآنزیم) Aspartate Aminotransferase (IU/l)										
روز ۷ 7 d	44.00^{a}	43.46^{a}	43.80^{a}	43.70^{a}	43.86^{a}	44.16^{a}	0.2094	0.6108	0.6906	0.5712
روز ۳۵ 35 d	66.00^{b}	65.50^{b}	65.83^{b}	67.80^{a}	67.60^{a}	67.60^{a}	0.2728	0.0006	0.7655	0.9278
روز ۷۰ 70 d	71.36^{b}	71.16^{b}	71.16^{b}	76.70^{a}	76.30^{a}	76.53^{a}	0.1880	<0001	0.9612	0.9282
آلانین آمینو ترانسفراز (واحد درآنزیم) Alanine aminotransferase (IU/l)										
روز ۷ 7 d	7.83^{ab}	7.16^{b}	7.53^{ab}	8.40^{a}	7.36^{b}	8.33^{a}	0.1623	0.0461	0.0302	0.5780
روز ۳۵ 35 d	9.63^{b}	7.86^{c}	9.66^{b}	11.93^{a}	9.53^{b}	11.43^{a}	0.1566	<0001	<0001	0.4814
روز ۷۰ 70 d	23.20^{a}	16.36^{c}	22.96^{a}	24.23^{a}	18.66^{b}	23.90^{a}	0.2603	0.0031	<0001	0.2849
انسولین (میلی‌گرم در دسی لیتر) Insulin (mg/dl)										
روز ۷ 7 d	8.16^{ab}	8.36^{ab}	7.60^{b}	8.33^{ab}	8.86^{a}	8.40^{ab}	0.1712	0.0711	0.1629	0.5826
روز ۳۵ 35 d	7.46^{b}	5.43^{c}	7.06^{cb}	9.63^{a}	8.33^{ab}	8.83^{ab}	0.3501	0.0010	0.0567	0.6504
روز ۷۰ 70 d	6.20^{c}	4.60^{d}	5.50^{c}	8.36^{a}	7.23^{b}	7.70^{ab}	0.1433	<0001	0.0009	0.5937

[۱] تیمارها: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس، ۲) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی، ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی، ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس، ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی

[۲] میانگین خطای استاندارد

[۳] سطح احتمال معنی¬دار شدن: P= ۰/۰۵

[1] Treatment consisted 1) 6 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 2) 6 L/d milk with *Oregano* essential oil, 3) 6 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil, 4) 9 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 5) 9 L/d milk with *Oregano* essential oil and 6) 9 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil.

[2] Standard error of mean

[3] Probability value p= 0.05

جدول ٦– کل زمان مربوط به تفاوت رفتار خوراک (دقیقه) گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تغذیه شده با مقادیر بالای شیر با یا بدون اسانس پونه کوهی و گل ختمی

Table 6- Feed behavior of Holstein dairy calves fed with the experimental diets high levels milk with or without essential oils

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی[۱] Experimental diets[1]						SEM[2]	P-value[3]		
	شش لیتر شیر 6 liter milk			نه لیتر شیر 9 liter milk						
	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis		شش در مقابل نه 6 liter milk VS 9 liter milk	اسانس Essential oil	شیر در مقابل اسانس Milk VS essential oil
رفتارخوراک (دقیقه) Feed behavior										
ایستادن Stand	188.53[a]	170.93[c]	183.34[ab]	179.35[b]	169.53[c]	177.35[b]	0.8395	0.0030	<0001	0.1854
خوابیدن Sleep	196.99[e]	243.63[a]	201.58[d]	216.11[c]	242.3[a]	221.6[b]	0.5399	<0001	<0001	<0001
مصرف خوراک Feed consume	27.99[a]	20.45[b]	27.31[a]	26.78[a]	20.56[b]	26.45[a]	0.4987	0.7737	0.0078	0.9169
نشخوار Ruminant	34.66[a]	13.37[c]	36.00[a]	21.99[b]	13.30[c]	20.82[b]	0.6236	<0001	<0001	<0001
رفتارغیرتغذیه‌ای Non-nutritional behavior	31.81[b]	31.57[b]	31.76[b]	35.75[a]	34.48[a]	33.75[ab]	0.3138	<0001	0.3987	0.4583

[۱] تیمارها: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس، ۲) مصرفشش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی، ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی، ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس، ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی

[۲] میانگین خطای استاندارد

[۳] سطح احتمال معنی‌دار شدن: P= ۰/۰۵

[1] Treatment consisted 1) 6 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 2) 6 L/d milk with *Oregano* essential oil, 3) 6 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil, 4) 9 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 5) 9 L/d milk with *Oregano* essential oil and 6) 9 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil.

[2] Standard error of mean

[3] Probability value p= 0.05

بررسی رفتار خوراک

برر سی رفتار خوراک به‌روش کا ستل و همکاران (Castells *et al*., 2012) به‌شکل مشاهدات چشمی به‌مدت دو هفته قبل از ۵۶ روزگی تا دو هفته بعد از ۵۶ روزگی برای همه گوساله‌ها در هر گروه انجام پذیرفت. برای بررسی رفتار خوراک، گوساله‌ها به‌مدت ۱۴ ساعت در هر هفته مورد مشاهده چشمی قرار می‌گرفتند. بنابراین، تمام زمانی که م شاهده چ شمی انجام گرفت برای هر گو ساله ۵۶ ساعت در کل دوره بود. م‌یانگین ز مان های مربوط به رفتار خوراک در تیمار های مختلف در جدول ۶ نشان داده شده است. گوساله‌های گروه دریافت‌کننده روزانه شش لیتر بدون ا سانس (شاهد)، زمان بیشتری را به مصرف خوراک، ایستادن و نشخوار سپری می‌کردند (P< ۰/۰۵)، در حالی که گوساله‌های دریافت‌کننده گروه روزانه نه لیتر شیر به همراه اسانس گیاهی پونه کوهی میزان زمان بیشتری را صرف خوابیدن کردند. مصرف خوراک، ایستادن و نشخوار بین گروه دریافت‌کننده ا سانس گل ختمی بیشتر از ا سانس پونه کوهی بود (P< ۰/۰۵). نتایج این مطالعه اشاره به تأثیر منفی اسانس پونه کوهی در تحریک مصرف خوراک (احتمالاً به‌علت عدم خوش‌خوراکی اسانس پونه کوهی) و فعالیت نشخوار دارد که با اندازه‌گیری‌های مربوط به مصرف خوراک منطبق می‌با شد. همچنین نتایج این م شاهدات با گزار شات کا ستل و همکاران (Castells *et al*., 2012) همراستا می‌باشد که اشاره به تأثیر افزایش زمان مصرف خوراک، افزایش زمان نشخوار و کاهش زمان مربوط به رفتار غیر تغذیه‌ای (لیس زدن دیوار) می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که افزودن اسانس‌های گیاهی به‌ویژه اسانس پونه کوهی در مقادیر بالای شیر گوساله‌های شیرخوار هلشتاین منجر به افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و افزایش رشد اسکلتی نسبت به گروه شاهد نمی شود. اگر چه تأثیر اسانس پونه کوهی بر بازده خوراک معنی‌دار بود. بنابراین، افزایش کمّی و کیفی روند رشد گوساله‌ها در واحد زمان و بیان استعداد ژنتیکی آن‌ها با به‌کارگیری اسانس‌های گیاهی به‌گونه‌ای که در این پژوهش انجام شده است منتج به عملکرد بهتر گوساله‌های شیرخوار هلشتاین نگردید. در مقابل افزایش مقادیر شیر مصرفی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین باعث بهبود عملکرد رشد گردید، هر چند که بازده خوراک گروه دریافت‌کننده نه لیتر شیر نسبت به گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر پایین‌تر بود.

References

1. Abdel-Wareth, A. A. A., Kehraus, S. Hippenstiel, F. & Südekum, K-H. (2012). Effects of thyme and oregano on growth performance of broilers from 4 to 42 days of age and on microbial counts in crop, small intestine and caecum of 42-day-old broilers. *Journal of Animal Feed Science and Technology, 178*, 198-202. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.10.006
2. AkbarianTefaghi, M., Ghasemi, E., & Khorvash, M. (2018). Performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves fed starter mixtures supplemented with herbal plants, essential oils or monensin. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *102*, 630-638. https://doi.org/10.1111/jpn.12842
3. Ammar, S. S. M., Mokhtaria, K., Tahar, B. B., Amar, A. A., Redha, B. A., Yuva, B., & Laid, B. (2014). Prevalence of rotavirus (GARV) and coronavirus (BCoV) associated with neonatal diarrhea in calves in western Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *4*, 318-322. https://doi.org/10.12980%2FAPJTB.4.2014C778
4. Anderson, K. L., Nagaraja, T. G., Morrill, J. L., Avery, T. B., Galitzer, S. J., & Boyer, J. E. (1987). Ruminal microbial development in conventionally or early-weaned calves. *Journal of Animal Science*, *4*, 1215-1226. https://doi.org/10.2527/jas1987.6441215x
5. Bampidis, V. A., Christodoulou, V., Florou-Paneri, P., & Christaki, E. (2006). Effect of dried oregano leaves versus neomycin in treating newborn calves with colibacillosis. *Journal of Veterinary Medicine Series*, *3*, 154-156. https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2006.00806.x
6. Beharka, A. A., Nagaraja, T. G., Morrill, J. L., Kennedy, G. A., & Klemm, R. D. (1998). Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. *Journal of Dairy Science*, *7*, 1946-1955. https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(98)75768-6
7. Beiranvand, H., Ghorbani, G. R., Khorvash, M., Nabipour, A., Dehghan-Banadaky, M., Homayouni, A., & Kargar, S. (2014). Interactions of alfalfa hay and sodium propionate on dairy calf performance and rumen development. *Journal of Dairy Science*, *4*, 2270-2280. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6332
8. Benchaar, C., Petit, H. V., Berthiaume, R., Ouellet, D. R., Chiquette, J., & Chouinard, P. Y. (2007). Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *Journal of Dairy Science*, *2*, 886-897. https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(07)71572-2
9. Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., & Kamel, C. (2006). Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, *2*, 761-771. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72137-3
10. Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L., & Ferret, A. (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, *6*, 2580-2595. https://doi.org/10.3168/jds.2006-644
11. Castillo, C., Benedito, J. L., Vázquez, P., Pereira, V., Méndez, J., Sotillo, J., & Hernández, J. (2012). Effects of supplementation with plant extract product containing carvacrol, cinnamaldehyde and capsaicin on serum metabolites and enzymes during the finishing phase of feedlot-fed bull calves. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, *171*, 246-250. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.11.006
12. Cardinali, R., Cullere, M., Dal Bosco, A., Mugnai, C., Ruggeri, S., Mattioli, S., Castellini, C., Trabalza Marinucci, M., & Dalle Zotte, A. (2015). Oregano, rosemary and vitamin E dietary supplementation in growing rabbits: Effect on growth performance, carcass traits, bone development and meat chemical composition. *Journal of Livestock Science*, *175*, 83-89. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.02.010
13. Castells, L. I., Bach, A., Araujo, G., Montoro, C., & Terre, M. (2012). Effect of different forage sources on performance and feeding behavior of Holstein calves. *Journal of Dairy Science, 95*, 286–293. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4405
14. Castells, L. l., Bach, A., Aris, A., & Terré, M. (2013). Effects of forage provision to young calves on rumen fermentation and development of the gastrointestinal tract. *Journal of Dairy Science*, *8*, 5226-5236. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6419
15. Chaves, A. V., Stanford, K., Dugan, M. E. R., Gibson, L. L., McAllister, T. A., Van Herk, F., & Benchaar, C. (2008).

Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Journal of Livestock Science*, *117*, 215-224. http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.livsci.2007.12.013

16. Dennis, T. S., Suarez-Mena, F. X., Hill, T. M., Quigley, J. D., Schlotterbeck, R. L., & Hulbert, L. (2018). Effect of milk replacer feeding rate, age at weaning, and method of reducing milk replacer to weaning on digestion, performance, rumination, and activity in dairy calves to 4 months of age. *Journal of Dairy Science*, *1*, 268-278. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13692
17. De Oliveira, K. Á. R., De Sousa, C., Da Costa Medeiros, J. P., De Figueiredo, J. A., Magnani, R. C. B. Q., De Siqueira, M., & De Souza, E. L. (2015). Synergistic inhibition of bacteria associated with minimally processed vegetables in mixed culture by carvacrol and 1, 8-cineole. *Journal of Food Control*, *47*, 334-339. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.017
18. Grigore, A., Paraschiv, I. N. A., Colceru-Mihul, S., Bubueanu, C., Draghici, E., & Ichim, M. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. volatile oil obtained by two different methods. *Romanian Biotechnological Letters*, *4*, 5436-5443.
19. Hernandez, F., Madrid, J. I., Garcia, V., Orengo, J., & Megias, M. D. (2004). Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Journal of Poultry Science*, *2*, 169-174. https://doi.org/10.1093/ps/83.2.169
20. Hernández, J., Benedito, J. L., Vázquez, P., Pereira, V., Méndez, J., Sotelo, J., & Castillo, C. (2009). Supplementation with plant extracts (carvacrol, cinnamaldehyde and capsaicin): Its effects on acid base status and productive performance in growing/finishing bull calves. *Berliner and Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, *122*(3-4), 93-99. PMID: 19350807.
21. Ionescu, C., Mazuranok, L., & Timmler, R. (2013). Effects of combination of carvacrol, cinnamaldehyde and *Capsicum oleoresin* (XTRACTTM 6930) on the performances of broiler chickens. *Journal of Poultry Science*, *7*, 137-151. https://doi.org/10.1017/S1752756200015520
22. Izzaddeen, S. I., & Kaygısız, A. (2018). Effect of essential oil of laurel (*Laurus L.* nobilis) on performance, blood and fecal parameters of Holstein calves during suckling period. *Pakistan Journal of Zoology*, *50*(3), 799-1198.
23. Jakhetia, V., Patel, A., Khatri, R., Pahuja, P., Garg, N., Pandey, S., & Sharma, S. (2010). Cinnamon: A pharmacological review. *Journal of Advanced Scientific Research*, *12*, 19-23. http://www.sciensage.info/
24. Joch, M., Cermak, L., Hakl, J., Hucko, B., Duskova, D., & Marounek, M. (2016). *In vitro* screening of essential oil active compounds for manipulation of rumen fermentation and methane mitigation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *7*, 952-972. https://doi.org/10.5713/ajas.15.0474
25. Jouany, J. P., & Morgavi, D. P. (2007). Use of natural products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Journal of Animal Sciences*, *10*, 1443-1466. https://doi.org/10.1017/S1751731107000742
26. Khan, P. D., Karatzia, M. A., Dovas, C. I., Filioussis, G., Papadopoulos, E., Kiossis, E., & Karatzias, H. (2007). Evaluation of the in-field efficacy of oregano essential oil administration on the control of neonatal diarrhea syndrome in calves. *Research in Veterinary Science*, *115*, 478-483. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.07.029
27. Larson, L. L., Owen, F. G., Albright, J. L., Appleman, R. D., Lamb, R. C., & Muller, L. D., (1977). Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. *Journal of Dairy Science*, *60*, 989-991. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73495-5
28. Montoro, C., Ipharraguerre, I., & Bach, A. (2011) Effect of flavoring a starter in a same manner as a milk replacer on intake and performance of calves. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, *164*(1), 130– 134. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.11.023
29. Morrison, S. J., Dawson, S., & Carson, A. F. (2010). The effects of manan oligosaccharide and streptococcus faecium addition to milk replacer on calf health and performance. *Journal of Livestock Science*, *131*(2-3), 292-296. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.04.002
30. Naveed, R., Hussain, A., Tawab, I., Tariq, A., Rahman, M., Hamed, M., & Iqbal, M. (2013). Antimicrobial activity of the bioactive components of essential oils from Pakistani spices against Salmonella and other multi-drug resistant bacteria. *Journal of Dairy Science*, *13*(1), 1-10. https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-265
31. Rosenberger, K., Costa, J. H. C., Neave, H. W., Von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2017). The effect of milk allowance on behavior and weight gains in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *1*, 504-512. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11195
32. Rusenova, N., & Parvanov, P. (2009. Antimicrobial activities of twelve essential oils against microorganisms of veterinary importance. *Journal of Tricia Science*, *1*, 705-718. http://www.uni-sz.bg/
33. Santos, F. H. R., De Paula, M. R., Lazier, D., Silva, J. T., Santos, G., & Bitter, C. M. M. (2015). Essential oils for dairy calves: Effects on performance, scours, rumen fermentation and intestinal fauna. *Journal of Animal Science*, *9*(6), 958-965. https://doi.org/10.1017/s175173111500018x
34. Seifzadeh, S., Mirzaei, F., Abdi, H., davati, J., & Navidshad, B. (2017). The effects of a medical plant mix and probiotic on performance and health status of suckling Holstein calves. *Italian Journal of Animal Science*, *16*(1), 44- 51. https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1249421

35. Slipper, B. F., Lana, A. M. Q., Carballo, A. U., Ferreira, C. S., Franzoni, A. P. S., Lima, J. A. M., & Coelho, S. G. (2014). Effects of milk replacer feeding strategies on performance, ruminal development, and metabolism of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *97*(2), 1016-1025. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7201
36. Simitis, P. E., Deligeorgis, S. G., Bizelis, J. A., Dardamani, A., Theodosiou, I., & Figaro's, K. (2008). Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Journal of Meat Science*, *79*(2), 217-223. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.09.005
37. Souza, E. L., Stamford, T. L. M., Lima, E. O., & Trajan, V. N. (2007). Effectiveness of *Oregano* L. vulgare essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. *Journal of Food Control*, *18*, 409-413. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.11.008
38. Tureen, N., & Yana, M. (2013). Calf Breeding Techniques. Atatürk University Faculty of Agriculture Course Publications, 13, 232-246.
39. Uetake, K., & Figaro's, K. (2013). Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates. *Journal of Animal Science*, *84*, 101-105. https://doi.org/10.1111/asj.12019
40. Ünlü, H. B., & Rekik, R. (2013). Effects of thyme and garlic essential oil on calf performance and some blood parameters. *Journal of Agriculture Faculty*, *50*(3), 299-310.
41. Vakili, A. R., Khorrami, B., Mesgaran, M. D., & Parandm, E. (2013). The effects of thyme and cinnamon essential oils on performance, rumen fermentation and blood metabolites in Holstein calves consuming high concentrate diet. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *26*(7), 935-944. doi: 10.5713/ajas.2012.12636
42. Wafa, W. M., Tawab, E., Elhofy, A. A. A., & Bedawy, Y. M. (2021). Immune response, health status, blood components and growth performance of suckling calves treated with thymus vulgaris extract. *Journal of Animal Health Production*, *9*(3), 342-351. http://dx.doi.org/10.17582/journal.jahp/2021/9.3.342.351
43. Yang, C. T., Diao, B. W., Hai, Q. Y., Zeng, J. I. N., & Yan, T. U. (2016). Rumen fermentation and bacterial communities in weaned Chahaer lambs on diets with different protein levels. *Journal of Integrative Agriculture*, *15*(7), 1564-1574. doi: 10.1016/S2095-3119(15)61217-5
44. Zhou, R., Wu, L., Lang, J., Liu, X., Casper, L., Wang, D. P., & Wei, S. (2020). Effects of oregano essential oil on *in vitro* ruminal fermentation, methane production, and ruminal microbial community. *Journal of Dairy Science*, *103*(3), 2303-2314. https://doi.org/10.3168/jds.2019-16611